

19. エイズ研究センター

センター長 俣野 哲朗

概 要

エイズ研究センターは、HIVの属するレトロウイルスに起因する感染症を対象とし、その疾病制圧に向けた研究を推進している。特に世界三大感染症の一つであるHIV感染症の克服に結びつく研究の推進を主目的とし、わが国のエイズ対策研究において中核的役割を果たしてきた。

1981年、米国でエイズ症例の最初の報告がなされて以来、既に30年の歳月が流れている。この間の科学の進歩はめざましく、抗HIV薬開発も進展したが、未だに世界のHIV感染者数は3000万人を超え、毎年200万を超える人々が新たにHIVに感染し、年間約150万人がエイズ関連で亡くなっていると推定されている。このように世界のHIV感染拡大は極めて深刻な状況にあるが、日本国内においてもエイズ動向委員会によると、HIV感染者数・エイズ患者数をあわせた新規報告数は毎年約1,500件（平成26年：1,546件）で、感染者数の増大が続いている。特にエイズ発症により感染が判明する件数が多く（平成26年：455件）、多くの感染者が早期診断に至っていないと考えられ、憂慮すべき事態である。抗HIV薬治療によりエイズ発症抑制が可能となってきたが、感染者はほぼ一生にわたる服薬が必要で、副作用・薬剤耐性・高額医療費等の問題が生じている。さらに近年、エイズ発症に至らなくとも骨粗鬆症・心血管障害等の種々の疾患の促進が大きな問題となってきている。当センターは、このHIV感染症克服に向けたエイズ対策研究拠点として、総合的な戦略研究を推進している。

HIV感染症対策としては、衛生行政・国民への啓発等の社会的予防活動に加え、ワクチン、抗HIV薬を含めた総合戦略が重要である。症状の潜伏期間の長いHIV感染症では社会的予防活動のみによる封じ込めが困難であることから、グローバルなHIV感染拡大阻止の切り札として予防ワクチン開発は鍵となる戦略である。一方、国内のHIV感染症対策としては、上記のグローバルな視点での取り組みおよび国外の疫学情報収集に基づく国内への感染拡大の抑制に加え、国内の社会的予防活動の強化およびHIV感染者の治療法の向上を中心とする総合的かつ持続的な戦略が求められる。そこで当センターでは、「グローバルなHIV感染拡大阻止に必要な予防エイズワクチ

ン開発」、「HIV感染者に対する治療法向上」、「施策基盤となる情報獲得」の3点を主目的とする研究を推進している。

予防エイズワクチン開発を目的とする研究としては、優れたエイズモデルを構築し、この系を用いてHIV持続感染成立阻止に結びつく免疫機序の解明研究を展開するとともに、ワクチン開発を進めている。特に、優れた細胞傷害性Tリンパ球誘導能を有するセンダイウイルスベクターを用いたワクチンについては、国際エイズワクチン推進構想（IAVI）等との国際共同研究が進展し、平成25年より、ルワンダ・ケニア・英国での臨床試験第1相に発展している。

HIV感染者治療に関しては、国内の抗HIV薬治療患者検体の解析により、薬剤耐性株の出現・伝播についての調査を進め、臨床へのフィードバックを含め成果を得てきた。これらの解析を継続・発展させるとともに、新規治療薬開発に向けて、HIV複製・感染病態の分子生物学的解析を進め、治療標的となる機序・因子の同定を推進中である。また、感染者のHIV治療に向け、HIV複製制御維持・潜伏機序の解明を目指した研究を展開している。

施策基盤情報獲得に向けては、まず国内の診断・検査技術の向上および精度管理に関して中心的役割を果たしてきており、今後も精度の高い診断体制の確立に貢献していく予定である。国内外の疫学的調査研究を推進し、アジア諸地域を中心とした疫学情報を得てきたが、特に近年、ベトナム国立衛生疫学研究所および西アフリカのガーナ野口記念医学研究所との国際共同研究を推進している。また、HIV流行地域であるアフリカ・アジア等を対象とし、その診断検査技術向上を目的として、国際協力機構の協力によるHIV感染診断技術に関する国際研修を年一回開催している。

以上のように、エイズ研究センターは、研究の推進ならびにその成果の国内外への発信・導入により、わが国におけるHIV感染拡大防止およびHIV感染者・エイズ患者のQOLの向上、さらには世界のHIV感染症の克服に貢献することを目標としている。

なお、平成27年2月1日付で立川 愛第2室長が着任し、平成27年3月31日付で高橋尚史研究員が任期満了にて退職した。

業績 調査・研究

I. HIV 感染免疫動態と予防エイズワクチンに関する研究

1. HIV 感染免疫動態に関する研究

(1) HIV 感染免疫動態の解析に結びつくエイズモデルに関する研究

HIV 複製抑制において細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) 反応は中心的役割を果たしており、CTL の標的抗原提示に関与する主要組織適合遺伝子複合体クラス I (MHC-I) の遺伝子型は、HIV 感染病態進行に大きく関与することが知られている。そこで我々は、MHC-I 遺伝子型をハプロタイプレベルで共有するビルマ産アカゲサル群を用いた独自のエイズモデルを確立してきた。特に MHC-I ハプロタイプ A・E・B・J の各々を共有する 4 群のサル免疫不全ウイルス (SIV_{mac239}) 感染病態を解析して、MHC-I ハプロタイプとエイズ病態進行の相関を見出し、Gag 抗原を標的とする CTL が強い SIV 複製抑制能を有することを明らかにした。さらに、慢性期に低い血漿ウイルス量を示す protective MHC-I ハプロタイプ D 共有群を見いだしてきた。平成 26 年度には、これらの SIV 感染サル群の感染免疫動態研究を継続・発展させた。

[石井 洋、野村拓志、高橋尚史、池田典子、五領舞衣、佐野雅人、中村 碧、関紗由里、山本浩之、松岡佐織、三浦智行 (京都大学)、小柳義夫 (京都大学)、明里宏文 (京都大学)、保富康宏 (医薬基盤研究所)、成瀬妙子 (東京医科歯科大学)、木村彰方 (東京医科歯科大学)、俣野哲朗]

(2) 宿主細胞性免疫反応と HIV との相互作用に関する研究

ア. SIV 複製制御維持群の解析

我々はこれまで、Gag を主抗原とする DNA プライム・センダイウイルス (SeV) ベクターブーストワクチンを開発し、MHC-I ハプロタイプ A 共有サル群では、ワクチン接種サル全頭で SIV 持続感染成立が阻止されることを示し、その SIV 複製制御に Gag206-216 エピトープ特異的 CTL および Gag241-249 エピトープ特異的 CTL が中心的役割を担っていることを明らかにしてきた。平成 26 年度には、このような SIV 複製制御状態の維持機序の解明に向けた研究を推進した。SIV 感染後 2 年以上の長期にわたり SIV 複製制御状態を維持した MHC-I ハプロタイプ A 共有サル群において、プロウイルスのゲノム cDNA 塩基配列を調べたところ、感染後 1 年までは変異選択が認められなかったが、感染後 2 年のプロウイルス

には、gag・nef 領域に複数の CTL 逃避変異選択が認められる群と認められない群があることが判明した。前者は今後の SIV 複製制御状態維持が難しい群、後者は長期 SIV 複製制御状態維持が期待される群と考えられ、今後、両者を比較することにより、HIV/SIV 複製制御維持機序の解明に結びつくことが期待される。

[野村拓志、石井 洋、高橋尚史、山本浩之、明里宏文 (京都大学)、成瀬妙子 (東京医科歯科大学)、木村彰方 (東京医科歯科大学)、俣野哲朗]

イ. サルエイズモデルにおける CTL 逃避変異の次世代シーケンサーによる網羅的解析

SIV 感染サルエイズモデルを用いた解析から、MHC-I ハプロタイプの異なるサルでは異なる SIV 抗原に対して CTL が誘導され、その CTL による SIV 複製抑制能も異なることが既に報告されている。本研究では、MHC-I 遺伝子型を共有しないサルからサルへの SIV 継代実験を行い、継代後 1 週目、3 ヶ月目および 1 年目の血漿由来ウイルス Gag CA コード領域ゲノムについて、次世代シーケンサーによる解析を行った。多くの CTL 逃避変異が MHC-I 遺伝子型を共有しないサルへの伝播後も維持されることを見出すとともに、得られた配列情報を元に系統樹解析を行い、サル個体内の SIV の population の経時的变化を明らかにした。

[西澤雅子、野村拓志、関紗由里、横山 勝 (病原体ゲノム解析研究センター)、中村浩美 (病原体ゲノム解析研究センター)、佐藤裕徳 (病原体ゲノム解析研究センター)、俣野哲朗]

(3) 宿主液性免疫反応と HIV との相互作用に関する研究 ア. SIV 中和抗体の感染個体レベルにおける防御機序の解析

エイズウイルス中和抗体 (NAb) は感染急性期の受動免疫により著明な持続感染阻止効果を示し、機序として抗原提示修飾を介した特異的 T 細胞応答亢進が関わる可能性を我々は近年見出している。前年度までは、非中和抗体 (nNAb) 受動免疫の個体レベルにおける持続感染阻止能の欠失と、中和抗体受動免疫による 2 年間以上にわたる長期 SIV 複製制御群 (elite controller : EC 状態) の同定を行った。本年度は各 EC 個体における主要な CTL エピトープの新規同定を進めた。その結果、MHC クラス I ハプロタイプ H 陽性サルにおける複数のドミナントな CTL エピトープを新規に同定した。SIV 複製初期制御直前におけるこれらの領域内の CTL エスケープ変異選択を血中ウイルスにつき評価した結果、EC 個体では選

択圧の形跡が認められるものの標準的なエスケープの様式とは異なっており、かつ完全な逃避に至っていないかった。過去に報告した *in vitro* における CD8 陽性細胞集団の SIV 複製抑制能亢進を考慮すると、これらのドミナントな CTL 応答が高度に機能亢進を示している可能性が示唆された。上記結果をもとに、同定した CTL エスケープ変異を有する変異体 SIV を系統的に作製し、それらの *in vitro* 複製抑制能を評価する計画である。

[伊勢田すみれ、高橋尚史、Hugo Poplimont、野村拓志、関紗由里、俣野哲朗、山本浩之]

イ. 抗 SIV 中和抗体誘導サル群の新規同定と感染免疫学的解析

高度の NAb 抵抗性(誘導障害)を自然感染経過で示す SIVmac239 を感染させたアカゲサル 50 頭以上より経時的に採取した凍結血漿を用いた解析を進め、NAb 高誘導を示す新規サル群を同定した。この群の解析は、HIV/SIV に対する NAb 誘導機序の解明に結びつくことが期待される。

[山本浩之、俣野哲朗]

ウ. 新規サル馴化 HIV-1 (HIV-1mt) における液性免疫応答研究

現在、抗 HIV 薬の併用による cART 療法が画期的な進展を遂げた結果、HIV 感染症は慢性感染症の一つとなったと言える。しかしながら、HIV 感染者は生涯に渡る薬の服用が必須であり、それに伴う薬剤の副作用や薬剤耐性ウイルスの出現、さらに加齢に伴う HIV の再活性化など検討課題は山積している。現在、完全治癒や機能的治癒の実現に向けた様々な基礎研究が行われているが、それらの有効性及び安全性を評価するための介入試験を HIV 感染者において実施することは難しいのが実情である。そこで、我々はそれらの評価研究に適した新規霊長類モデルとして HIV-1 の感染伝播に重要な CCR5 指向性を有する新規サル馴化 HIV-1 (HIV-1mt) をカニクイザルに実験感染を行っている。他方、我々はこれまでに *in vitro* の薬剤及び中和抗体逃避ウイルス誘導を、様々な臨床分離ウイルスを用いて行って来た。特に、CCR5 inhibitor [maraviroc (MVC)] からの逃避ウイルスが anti-Env 中和抗体に感受性になる一群の変異を同定してきた。

そこで本年度は、これら中和感受性の異なるウイルスパネルを用い、HIV-1mt 感染サルにおける中和抗体価を測定し、結合抗体価と比較検討した。その結果、サル間でウイルスを継代するごとに結合抗体だけでなく、中和

抗体価も上昇していくことが観察できた。1 継代目のウイルス感染サルでは、結合抗体価が上昇しても中和抗体は出現せず、ウイルスの血中量と中和抗体の誘導が密接に関与していることが示唆された。これらのウイルスセットで感染サルの血中に含まれる中和抗体の大まかな種類と力価が測定可能となれば、ウイルスシーケンスと中和抗体産生の関係を知る事が出来るだけでなく、ワクチン抗原の探索に有用な知見を得られるといえる。

[原田恵嘉、明里宏文(京都大学)、吉村和久]

(4) 病原性を決定する TH1 細胞標的性に関する研究

HIV 初期感染は、慢性感染を経て免疫機能不全に至る。ところが、早期治療による初期感染制御により投薬治療を行わず長期間の感染制御が実現した例が報告された。我々は、霊長類モデルを用い、ウイルススパイクの糖鎖修飾が初期感染の制御に重要な役割を持つことを明らかにした。SIVmac239 のスパイクタンパク gp120 の 5 カ所の N 型糖鎖を欠失した糖鎖変異株 Δ5G は SIVmac239 と同レベルの初期感染の後、感染は制御された。SIVmac239 は HIV 感染と同様に慢性感染から AIDS を発症させた。初期感染における感染組織・標的細胞の解析から、SIVmac239 は 2 次リンパ組織の CXCR3+CCR5+CD4+T (TH1) 細胞を、Δ5G は小腸粘膜固有層の CD4+T 細胞 (TH17 等) を標的細胞とした。TH1 細胞標的性は病原性感染の条件と推測される。エイズウイルスは免疫応答により活性化した CD4+T 細胞に感染・増殖することから、標的 CD4+T 細胞が異なるのは免疫応答の違いが原因となると推測した。そこで、感染後 7 日の末梢単核球を用いマイクロアレイによる遺伝子発現解析から免疫応答の違いについて解析した。SIVmac239 は Δ5G と比較して自然免疫/1 型 interferon 関連遺伝子群等の発現が有意に高いことが判明した。さらに CXCR3 ケモカイン遺伝子群の発現が顕著に高く、2 次リンパ組織での TH1 細胞感染の主原因と推測された。CXCR3 ケモカイン: CXCL9, CXCL10, CXCL11 の発現細胞・動態の解析から、血中 CD16+monocyte、リンパ組織 CD14+macrophage における CXCL10 の発現は、SIVmac239 感染では Δ5G 感染と比べ 10 倍以上高く、TH1 細胞感染と相関していた。これらの結果から、糖鎖修飾による SIV の TH1 細胞標的性の機序において、Mo/Macrophage/DC による CXCL10 を介する免疫応答が重要な役割を持つことが示唆された。

[森 一泰、藤野真之]

2. HIV 粘膜感染に関する研究

(1) サルエイズモデル経直腸感染に関する研究

我々はこれまで、MHC-I ハプロタイプ共有ビルマ産アカゲサルを用いた SIVmac239 経静脈感染モデルを確立してきた。この系をさらに粘膜感染解析系に応用すべく、低接種量 SIVmac239 経直腸感染実験を進めるとともに、腸管粘膜における SIV 特異的 T 細胞反応解析系の樹立を推進・継続している。この経直腸感染による慢性持続感染系は、経静脈感染系との比較ならびにワクチン効果の検討に有用である。

[中村 碧、石井 洋、松岡佐織、寺原和孝（免疫部）、横田恭子（免疫部）、三浦智行（京都大学）、小柳義夫（京都大学）、俣野哲朗]

3. エイズワクチンに関する研究

(1) センダイウイルスベクターワクチンの抗原設計に関する研究

我々が開発してきたセンダイウイルス (SeV) ベクターを用いた CTL 誘導エイズワクチンは、SIV 感染サルエイズモデルで初めて有効性を示した点で注目され、接種者全員への効果は期待できないものの集団レベルでの HIV 感染拡大抑制効果の期待のもと、国際エイズワクチン推進構想 (IAVI) を中心とする国際共同臨床試験プロジェクトが進展中で、2013 年より臨床試験第 1 相がルワンダ・ケニア・英国にて行われ、中間結果の段階で安全性と免疫原性が確認されている。本研究では、この SeV ベクターワクチンの抗原最適化に向けた研究を展開している。これまでの研究で、Gag と Vif が有効な CTL の標的抗原として有望であることを示す結果が得られたことから、平成 26 年度には、これら Ga・Vif 抗原を断片化し連結した抗原を設計した。

[石井 洋、関紗由里、山本浩之、武田明子、井上 誠（ディナベック）、弘中孝史（ディナベック）、原 裕人（ディナベック）、朱 亜峰（ディナベック）、俣野哲朗]

(2) ワクチン誘導 CD4 陽性 T 細胞に関する研究

ヘルパー CD4 陽性 T 細胞反応は、有効な CTL 反応あるいは抗体反応誘導に重要と考えられている。しかし、HIV は HIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞により効率よく感染することが知られており、ワクチンによる HIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞誘導は、HIV 感染標的の増強につながる可能性が懸念される。この点をふまえ本研究では、サルエイズモデルで、ワクチンにより誘導された抗原特異的 CD4 陽性 T 細胞の SIV 感受性に関する研究を行った。非ワクチン接種サル 21 頭および Gag 発現 SeV ベクターワクチン接種サル 18 頭の凍結サンプルを用い、SIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞の CD107a・MIP-1 β ・IFN- γ ・TNF- α ・IL-2

反応を解析したところ、ワクチンによって誘導される CD107a 陰性 CD4 陽性 T 細胞数は、SIV 感受性が高く、SIV 曝露後 (1 週目には) 大きく減少した。一方、CD107a 陽性 CD4 陽性 T 細胞は、比較的 SIV 感染抵抗性で、SIV 曝露後も維持される傾向にあった。ワクチン接種サルのうち SIV 複製制御にいたらなかった個体では、感染 1 週目の血中ウイルス量が非ワクチン接種群と比較して有意に高値を示した。本研究結果は、ワクチンによる HIV 特異的 CD4 陽性 CD107a 陰性 T 細胞の誘導が、曝露後の有効な HIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞反応誘導に結びつかず、逆に HIV 感染標的増幅を介して HIV 複製を促進しうることを示唆している。このことは、HIV ワクチン開発において、HIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞誘導を避けながら (非 HIV 抗原特異的 CD4 陽性 T 細胞誘導により) 有効な免疫を誘導する戦略の合理性を新たに提示するものである。あるいは HIV 特異的 CD4 陽性 CD107a 陽性 T 細胞誘導法の開発も一つの戦略である。

[石井 洋、寺原和孝（免疫部）、横田恭子（免疫部）、野村拓志、高橋尚史、武田明子、椎野禎一郎、Mark de Souza、俣野哲朗]

II. HIV 感染病態と感染者治療法に関する研究

1. HIV 複製および感染病態に関する研究

(1) HIV-1 マトリックス (MA) 変異体を用いた複製前期過程の解析

HIV-1 マトリックスタンパク質 (MA) は、複製後期過程におけるウイルスの粒子形成、Gag タンパク質 (Gag) の形質膜へのターゲットティング、エンベロープタンパク質 (Env) のウイルス粒子への取込み等に重要な役割を果たすことが解明されているが、前期過程における役割は十分に解明されていない。しかし、膜結合能が上昇する L20K 変異体は、前期過程にも障害をもつことが示唆されている。そこで、我々は膜結合能が低下するとされる V6R 変異体とその復帰変異体を用いて、前期過程における MA の役割を検討した。WB の結果から、V6R 変異体では細胞内に開裂されない Gag 前駆体が蓄積するが、ウイルス粒子においては Gag のプロセッシングや Env のウイルス粒子への取込みは野生型 (WT) と同等であることが示された。V6R 変異体は感染価の低下が報告されているが、VSV-G シュードタイプウイルスを用いても感染価は回復しなかった。さらに、*In situ* uncoating assay により V6R 変異体は WT や復帰変異体と比べて脱殻速度が亢進することが示された。また、定量 PCR の結果からは、ウイルス DNA への逆転写以降の過程で障害が生じていることが示唆された。以上より、MA は HIV-1 の複製前

期過程に関与することが示唆された。今回検討した MA 変異体は感染後期過程のみならず、前期過程の逆転写以降からインテグレーションに関与する宿主因子を探索する上で、有用なツールになりうる事が明らかとなった。[引地優太、武田 英 (大阪大学)、藤野真之、Eric O. Freed (米国 NIH)、中山英美 (大阪大学)、塩田達雄 (大阪大学)、俣野哲朗、村上 努]

(2) 抗 HIV 療法中の CTL 反応の解析

抗 HIV 薬療法 (ART) により HIV 感染者の体内ウイルス量は低下するが、CTL 反応もこのウイルス複製抑制に関与している。本研究では、ART 中に低下する HIV 特異的 CTL 反応の増強が HIV 複製制御に与える影響を知ることを目的として、ART 中の治療ワクチンとしての SIV 抗原発現センダイウイルス (SeV) ベクター接種による抗原特異的 CTL 反応誘導効果を、サルエイズモデルにて検証した。これまでに、SIV 感染サルにおいて抗 HIV 薬投薬開始後 3 ヶ月目の Gag・Vif 発現 SeV ベクター接種による Gag・Vif 特異的 CTL 反応の誘導・増強効果を示すと同時に、Gag 特異的 CTL 反応と CD8 陽性細胞の SIV 複製抑制効果の相関を見出し、Gag 特異的 CTL 反応の増強が SIV 複製抑制に貢献することを明らかにしてきた。さらに、ウイルスゲノム変異の解析を推進中である。[中村 碧、石井 洋、松岡佐織、三浦智行 (京都大学)、小柳義夫 (京都大学)、井上 誠 (ディナベック)、朱 亜峰 (ディナベック)、成瀬妙子 (東京医科歯科大学)、木村彰方 (東京医科歯科大学)、俣野哲朗]

(3) HIV 感染者の口腔免疫に関する研究

HIV 感染者は ART 療法後、感染症による全身症状は沈静化してくるが、口腔においては症状が出現することがある。この口腔の症状を予測するような因子を見つける検討を行った。倫理委員会の申請を得た国立感染症研究所、国立国際医療研究センター、国立病院機構大阪医療センターから HIV+患者 38 名および対照:HIV-被験者 28 名の唾液を採取し、唾液活性物質と口腔微生物の定量を行った。その結果、唾液中の総菌数、総嫌気性菌数は、HIV+患者において対照である HIV-被験者よりも有意に多いことが明らかとなった。また唾液 M-CSF や CA125/MUC16 は、HIV+患者において対照よりも多いものの有意差はなかった。しかし、CA125/MUC16 の濃度が 160 unit/ ml 以上の HIV+患者の歯周病発症率は、CA125/MUC16 の濃度が 160 unit/ ml 未満の HIV+患者よりも有意に高いことが明らかとなった。また M-CSF においても同様の傾向が認められた。M-CSF の濃度が

1500 pg/ ml 以下および血中 CD4 500 個/mm³ 以下の HIV+患者は、口腔 Candida 菌数が著しく多いことも明らかとなった。よって、唾液中の総菌数、嫌気性菌数や M-CSF、CA125/MUC16 は、口腔疾患発症リスクマーカーになりうる可能性が示された。

[吉村和久、泉福英信 (細菌第一部)、有家 巧 (国立病院機構大阪医療センター)、丸岡 豊 (国立国際医療研究センター)]

2. 薬剤耐性に関する研究

(1) 抗 HIV-1 療法を受けている HIV/AIDS 患者の薬剤耐性モニタリング

我々は平成 8 年度より適切な抗 HIV-1 治療実現のための支援事業として、薬剤耐性 HIV-1 検査を実施してきた。解析する領域は抗 HIV-1 薬剤の標的であるプロテアーゼ、逆転写酵素、インテグラーゼの 3 領域であり、検査の結果は約 3 週間で主治医に報告され、治療薬剤選択の指標として活用されてきた。解析を行った検体は平成 27 年 3 月の時点で累積 9942 検体に達している。尚、平成 18 年度からは薬剤耐性遺伝子検査が保険収載されたため、検査は民間の検査会社にゆだねられることになり、我々のところで実施する検体は、精査を目的とするもの、経済的な理由により検査が困難なもの、そして次項に述べる疫学調査を目的としたものに限られるようになった。このため平成 18 年度以降は保険収載前と比較して解析検体数は大幅に減少した。薬剤耐性検査に加えて CCR 5 阻害剤の使用に対応するために Env C2V3 の遺伝子配列解析による指向性検査を実施している。平成 26 年度は 319 検体の解析を行っており、平成 27 年 3 月の時点で 2117 検体の指向性検査を実施した。

[杉浦 互、服部純子 (名古屋医療センター)、松田昌和 (名古屋医療センター)、岩谷靖雅 (名古屋医療センター)]

(2) 高感度薬剤耐性検査法を用いた新規未治療患者における微少集族薬剤耐性 HIV 検出の試み

定量 PCR を応用した高感度薬剤耐性検査法 (高感度法) は、逆転写酵素阻害剤耐性変異 M41L, K65R, K70R, K103N, Y181C, M184V, T215F/Y について、血漿中存在比率として約 1-5%程度の感度で検出可能である。平成 25 年度に M184V 検出系の改良を行い、プライマー結合部位に高度の遺伝子多型が存在しても約 3%の検出感度を持つ系を確立した。この M184V 検出系を用いて、2008 年から 2009 年にかけて薬剤耐性検査を行った Subtype B の患者検体 149 症例について再解析を行った。その結果、従来の高感度法で M184V が検出された 1 症例に加えて 7

症例から M184V が微少集簇として検出された。これらの 8 症例は全員男性、うち 7 症例は日本人・感染経路は同性間で、日本人の HIV 感染患者の背景と違いは見られなかった。これらの患者の血中に主要な集簇として存在する HIV の RT 領域について系統樹解析を行った結果、症例番号 2,4,7,8 と症例番号 3, 5 がそれぞれクラスターを形成しており、Bootstrap value の値から HIV の感染がこのクラスター間で起こっていた可能性が示唆された。症例番号 1,3 の患者検体中で主要な集簇として存在する HIV の RT 配列と M184V を持つ微少集簇として存在する HIV RT 配列を系統樹で解析した結果、それぞれ系統樹上で近傍に位置していた。これは微少集簇として存在する M184V を持つ HIV が、野生型の HIV と共に患者に重感染して存在しているのではなく、患者血中に存在する野生型 HIV を origin として出現した可能性が示唆された。[西澤雅子、服部純子（名古屋医療センター）、Jeffrey Johnson（米国 CDC）、Walid Heneine（米国 CDC）、杉浦互]

(3) 抗 HIV 剤が Env 多様性に与える影響に関する研究

抗レトロウイルス併用療法（cART）は、抗 HIV 剤の標的領域（逆転写酵素、プロテアーゼなど）だけでなく、他の領域（エンベロープ等）に対しても遺伝的ボトルネックを誘因し、遺伝的多様性（diversity）を低下させる事が、多くの臨床研究で報告されている。しかしながら、エンベロープ（Env）領域のボトルネックに関する臨床研究は、組み合わせ用いている他の抗 HIV 剤や、宿主免疫系による影響などの制約が多く、各抗 HIV 剤の影響を直接調べるのは極めて難しい。我々はこれまでに、感染症例でのみ報告されていた Env 多様性に対する抗 HIV 剤の影響を、in vitro 誘導系を用いることで、インテグラーゼ阻害剤ラルテグラビル（RAL）が作用部位とは異なる Env 領域の diversity を減少させることのみならず、コントロール群と比較して明らかに異なる Env を選択することを明らかにしてきた。本年度は、昨年度に引き続き、in vitro CCR5 阻害剤マラビロック（MVC）耐性誘導により Env 領域に耐性変異が蓄積したウイルスに対し、RAL による選択圧が MVC 耐性ウイルス Env にどのような変異をもたらし、また、MVC 感受性に影響を与えるかを解析した。結果、RAL 選択圧によりクワシーブーシーズからの Env 領域の選択のみならず、MVC 耐性 Env に de novo 変異を惹起し、MVC 感受性へと変化させることが明らかになった。このことは、今後 ART における侵入・融合阻害剤とインテグラーゼ阻害剤との組み合わせを考える上で重要な知見となると考えられ、引き

続き、クローンウイルスを用いて詳細な解析を進めている。

[原田恵嘉、吉村和久]

(4) MVC 耐性誘導による Env の変異が中和抗体感受性に及ぼす影響に関する研究

現在、臨床で用いられている抗 HIV 剤の殆どが逆転写酵素阻害剤もしくはプロテアーゼ阻害剤である。2008 年に新たな機序の阻害薬として、CCR5 阻害剤マラビロック（MVC）およびインテグラーゼ阻害剤ラルテグラビルが FDA により認可された。その中でも MVC は初めての宿主因子を標的とする抗 HIV 剤であり、耐性機序に関しては未だに明らかでないことが多い。さらに MVC は間接的にウイルスエンベロープ（Env）蛋白に作用することもあり、感染者体内に存在する中和抗体との相互作用についても興味注がれている。そこで昨年度までに、血友病症例から分離した HIV-1 subtype B（KP-5）を用いて、MVC に対する in vitro 耐性誘導を行い、MVC 耐性獲得によるエンベロープ Env の構造変化と中和抗体に対する感受性の関係を解析した。

本年は in vitro で誘導した MVC 高度耐性ウイルスだけでなく、CCR5 発現の低い細胞で継代したウイルスの Env 組換えウイルスを作製し、詳細に gp120 の変異と中和抗体の感受性の関連性を調べた。その結果、MVC 高度耐性ウイルスと同様に低 CCR5 細胞馴化ウイルスも中和抗体に感受性となり、しかも MVC 高度耐性ウイルスとは感受性となる中和抗体の種類が違う事が分った。そこで、これらのウイルスを用いて、その他の HIV 感染症例から得た血漿中に含まれる中和抗体の種類が同定可能かどうかを検討した。その結果、subtype B のみならず、subtype AE の血清の中和も測定することが出来た。これらのパネルで今後簡便に感染者の血中に含まれる中和抗体の大まかな種類と力価が測定可能となれば、ウイルスシーケンスと中和抗体産生の関係を知る事が出来るだけでなく、ワクチン抗原の探索に有用な知見を得られるといえる。

[Samatchaya Boonchawalit、原田恵嘉、吉村和久]

3. 新規治療法開発に関する研究

(1) 新規抗 HIV 剤としての CD4 類似低分子化合物誘導体に関する研究

HIV の標的細胞への感染は、標的細胞表面の CD4 およびケモカイン受容体と、ウイルス粒子上のエンベロープ（Env）蛋白質の一つである gp120 が結合し、標的細胞とウイルス粒子が膜融合を生じることで成立する。具

体的には、CD4 は gp120 の CD4 結合部位と結合し、gp120 の立体構造変化を引き起こす。その結果、ブリッジングシートと呼ばれる領域が形成および露出されることで、ケモカイン受容体と結合することが可能となる。次にケモカイン受容体との結合により、gp120 にはさらなる立体構造変化が生じ、もう一つの Env 蛋白質である gp41 の N 端部分に存在するフュージョンペプチドと呼ばれる領域が活性化され、標的細胞との膜融合が生じる。

これまで我々は、新規コンセプトの抗 HIV 剤開発として、CD4 類似低分子化合物 (CD4MCs) が、(i) gp120 と CD4 の結合を阻害しウイルス増殖を抑えること、(ii) gp120 の構造変化を誘起することで中和抗体活性を増強させること、(iii) 構造の違いにより幾つかの異なる耐性獲得経路があることを明らかにしてきた。今回は、これらの CD4MCs 耐性変異が異なるエントリー阻害剤および中和抗体の感受性に影響を与えるかを検討した。また、新たな分子動力的計算法を用いて、CD4MCs の耐性獲得機序についての解析を試みた。

CD4MCs 主要耐性変異 (V255M/T375I/M426I) を加えた KP-5P 株 (SubB-R5) 変異クローンをを用いた感受性試験において、V255M、T375I、および M426I 変異体は、今回用いたすべての CD4MCs に耐性を示したが、異なるエントリー阻害剤である MVC および IC9564 に対しては感受性を維持していた。中和抗体に関しては、4E9C (CD4i) に対しては 3 つの変異がすべて感受性低下をもたらすのに対して、3D6 (CD4bs) に対しては T375I のみが感受性低下を示し、b12 (CD4bs) に対してはいずれも感受性を示す結果が得られた。他方、KP-5P gp120 と NBD-556 複合体における分子動力的機構解析では、(i) V255M 変異により NBD-556 の結合親和性が減少すること、および (ii) M426I 変異により Lys130 と Glu429 間の水素結合が消失し、NBD-556 が野生株とは異なる部位に結合することが耐性発現と関与することが示された。以上、変異クローンをを用いた感受性試験および分子動力的機構解析により、各 CD4MCs 主要耐性変異の耐性度および耐性機序に関する新たな知見が得られた。このことは、CD4MCs の結合部位と活性の相関を検討する上で重要な知見となり、より強力な侵入阻害効果を持ち、かつ Env 立体構造変化能を有する次世代誘導体の開発に役立つといえる。

[原田恵嘉、横山 勝 (病原体ゲノム解析研究センター)、玉村啓和 (東京医科歯科大)、佐藤裕徳 (病原体ゲノム解析研究センター)、吉村和久]

(2) 経口投与可能な CXCR4 阻害剤の研究・開発

CXCR4 阻害剤 KRH-3955 は既存の CXCR4 阻害剤よりも活性が高く、経口投与が可能な薬剤として開発された。既存の CXCR4 阻害剤との差異を検討するため、各種 CXCR4 阻害剤への耐性を誘導し、耐性に寄与する変異を同定し、その耐性機序を解析した。さらに、耐性変異獲得による HIV-1 の中和抗体感受性の変化についても検討した。今回我々は、PM1/CCR5 細胞を用いて NL4-3 由来の 3 種の CXCR4 阻害剤 (KRH-3955, AMD3100, AMD070) の耐性ウイルスを分離し、エンベロープタンパク質 (Env) のアミノ酸配列を確認したところ、Env gp120 V3 領域に多くの変異が蓄積されていた。また、耐性ウイルスの中和抗体感受性は WT と比較して増加していることが認められた。そこで、V3 領域のみ置換したウイルスと各種阻害剤に共通していた S274R 変異を導入したウイルスを作製し、薬剤感受性と中和抗体感受性の検討を行った。その結果、薬剤耐性獲得には V3 領域の変異が関与していることが明らかになり、中和抗体感受性については、KRH-3955 耐性ウイルス由来の V3 置換株でのみ中和抗体感受性の上昇が認められた。一方で、S274R 変異体では薬剤感受性は変化しなかったが、中和抗体感受性の増加が確認された。このことより、CXCR4 阻害剤耐性獲得のために生じた変異は Env 全体の構造を大きく変化させることが示唆されたため、現在、NL4-3 と耐性ウイルスの構造特性を gp120 outer domain の MD simulation により解析している。

[引地優太、藤野真之、横山 勝 (ゲノム解析研究センター)、熊倉 成 (クレハ)、竹村太地郎 (長崎大学)、前田洋助 (熊本大学)、山本直樹 (国立シンガポール大学)、佐藤裕徳 (ゲノム解析研究センター)、俣野哲朗、村上努]

(3) HIV-1 Gag タンパク質部分ペプチド細胞内導入によるウイルス複製制御に関する研究

我々は、Gag 機能部位を明らかにするための基盤的研究として、ペプチド化学的手法によって合成した HIV-1 Gag 部分ペプチドの細胞内導入による HIV 複製制御の可能性を検討している。H26 年度は、HIV-1 CA 部分ペプチドライブラリーを作製し、それらの抗 HIV-1 活性と細胞毒性を評価した。その結果、細胞膜透過性を付与することにより X4、R5 HIV-1 のいずれのウイルスに対しても阻害活性を示す部分ペプチドとして、fragment 1、6、8、15 を特定できた。興味深いことに、fragment 15 は細胞膜透過性を付与しなくても弱いながら抗 HIV-1 活性を有していた

[藤野真之、野村 渉 (東京医科歯科大学)、水口貴章 (東京医科歯科大学)、玉村啓和 (東京医科歯科大学)、村上努]

(4) タンパク質導入系 LENA による安全な分化・脱分化誘導法の確立

我々はレトロウイルス基礎研究をもとにレンチウイルス様ナノ粒子(Lentivirus-like nanoparticle, LENA)によるタンパク質デリバリー法を開発した。昨年度、LENAにより導入した転写因子 Sox2 および Oct3/4 タンパクにより、これらの標的遺伝子である fgf4 の発現上昇が確認され、LENA により導入された転写因子が機能的であることを世界で初めて確認した。しかし、ヒト初代培養繊維芽細胞に LENA を暴露して CD45 陽性細胞に脱分化するかを試験したが、十分な生物活性を検出することはできなかった。この原因として、細胞に導入されるタンパク量が少ない可能性が考えられた。そこで、これらのタンパクについて遺伝子工学的な機能増強改変を行うことにした。Sox2 および Oct3/4 タンパクの N 末端側に転写活性化因子として知られる VP16 を融合させたタンパク質を発現する系を構築した。今後これを含有する LENA を産生させ、転写因子の活性の評価を行う予定である。

[武田 哲、駒野 淳 (大阪府立公衆衛生研究所)]

(5) 母乳中に含まれる母乳細胞除去法の開発

HIV の母子感染において、母乳の関与する割合は全体の約 40%とされており、その重要性がうかがわれる。母乳を介した母子感染の重要因子には母乳中に存在するウイルス感染細胞あるいはウイルスを捕捉した細胞が重要と言われており、母乳からのそれらの細胞の除去は母乳を介した母子感染阻止に非常に有効であると考えられる。昨年度までの結果から、3.0 μ m の孔径のフィルターで母乳を処理することにより母乳中の細胞が除去できることが予想された。今年度は、HIV 感染実験モデル系の構築を行い、フィルター処理を行うことにより、ターゲット細胞へのウイルスの受け渡しが抑制されることが示された。また、様々な孔径のフィルター処理を行った際の母乳中の栄養分の変化を測定した結果、タンパク質、分泌型 IgA、ラクトフェリンについては処理の違いによる変動は認められなかったが、中性脂肪に関しては 30 μ m~1.2 μ m の孔径のフィルターで含量の減少が認められた。しかし、これらの減少に関しては、児への影響はほとんどないと考えられた。以上のことから、HIV 母子感染を予防可能なフィルターを取り付けた搾乳器の完成に大きく前進した。

[武田 哲、堀谷まどか (ウイルス第一部)、中埜 拓 (ビーンスターク・スノー株式会社)、小林俊二郎 (ビーンスターク・スノー株式会社)、山口晃史 (国立成育医療研究センター)]

III. エイズ対策等の施策基盤構築に関する研究

1. 世界の HIV 感染動向に関する研究

(1) アジアにおける HIV/AIDS の疫学的研究：アジアにおける HIV-1 組換え型流行株 (CRF) の多発的新生

我が国、マレーシアおよび中国の研究機関との共同研究によって、数種の新規 HIV-1 組換え型流行株 (Circulating recombinant form, CRF)を見い出した。

① 2005 年に、関東地域に居住する東南アジア出身者 (異性間ルートによる性感染が推定される) から分離されたウイルス株が東南アジアに由来する CRF01_AE と欧米型サブタイプ B 間の組換えウイルスであることを見いしていたが、それが最近我が国から報告された東海地域の日本人男性同性愛者に見いだされている CRF69_01B (Hosoya et al. CROI 2014)と同一の組み換えウイルスであることが明らかにした。CRF69_01B は MSM だけでなく、その他のルートでも感染が広がっている可能性が示唆される。またこの株は CRF69_01B としては最も古い時期に分離されたの 1 つである。

② マレーシアにおいては、これまでに報告した CRF33_01B, CRF48_01B, CRF53_01B, CRF54_01B, CRF58_01B の 5 種の CRF に加え、新たに CRF74_01B を注射薬物乱用者 (IDU) 間に見いだした。組換え構造および組換え年代の解析により、CRF74_01B は、CRF33_01B あるいは CRF58_BC から 2 次的な組換えによって生じたものであると推定された。

③ 中国においては、近年激化している男性同性愛者 (MSM) 間の流行に係わる CRFs として同定された CRF55_01B, CRF59_01B について、中国西南部・雲南省西部地域の青壮年層の異性間ルートによる感染者 (ヘテロセクシャル) の間に、多様な CRF (CRF57_BC, CRF62_BC, CRF64_BC, CRF65_cpx (BC01))を見いだした。

アジア地域では昨年 (2012 年) 以来、以上のものを含めて 15 種を超える新規 CRF が報告されている。色々な対策にもかかわらず、リスク集団でのハイリスク行動を背景として、様々な地域で感染拡大が依然進行している状況を反映するものと考えられる。

[草川 茂、近藤真規子 (神奈川県衛生研究所)、加藤真吾 (慶應義塾大学)、Tee KK (マラヤ大学)、Kamarulzaman A (マラヤ大学)、Feng Y (中国 CDC)、Shao Y (中国 CDC)、Han X (中国医科大学)、Shang H (中国医科大学)、武部

豊]

(2) アフリカにおける HIV/AIDS の疫学的研究

ガーナにおける HIV 感染者の ART(抗ウイルス療法)における治療効果と薬剤耐性、蔓延 HIV 株と病態との関連、HIV サブタイプの解析および他の感染症の蔓延状況の調査結果等を解析している。ガーナ中央部に位置するコフォルディアにある州立病院を拠点とし、新たに未治療の抗 HIV 抗体陽性者 300 人以上より血液材料を採取し、血清ウイルス量、CD4 値、遺伝子解析による薬剤耐性遺伝子変異および HIV サブタイプの同定を行っている。

[石川晃一、杉浦 互、伊部史朗(名古屋医療センター)、William Ampofo (ガーナ野口記念医学研究所)]

(3) HIV ゲノムの HLA 関連変異の解析

ア. ベトナムにおける感染者 HIV ゲノムの HLA 関連変異の解析

HIV 感染症は世界三大感染症の一つであり、その克服は国際的最重要課題の一つである。CTL 反応は HIV 複製抑制に中心的な役割を担っており、CTL 逃避変異を有するウイルスの選択は感染病態に大きく影響しうる。この CTL 逃避変異を反映する HLA 関連 HIV 変異の動向把握は、HIV 感染症のコントロールに重要である。各 HLA アレル頻度は人種間で大きく異なるため、世界各地の流行 HIV 株の HLA 関連変異同定が必要であり、特にベトナムはアジアの HIV 感染流行地域の一つとして重要な対象地域である。そこで本研究では、ベトナム国の国立衛生疫学研究所 (National Institute of Hygiene and Epidemiology (NIHE) との共同研究を開始した。HLA タイピングおよびベトナム流行 HIV 株の遺伝子解析を推進し、約 180 検体について、HLA 遺伝子型同定をほぼ完了した。これらの HLA アレルに相関する HIV ゲノム変異同定を進める計画である。また感染者者情報と遺伝子解析情報を加味したデータベースの構築を進めている。[高橋尚史、武田 哲、石川晃一、松岡佐織、立川 愛、椎野禎一郎、Nguyen Thi Lan Anh (NIHE)、成瀬妙子 (東京医科歯科大学)、木村彰方 (東京医科歯科大学)、俣野哲朗]

イ. ガーナにおける感染者 HIV ゲノムの HLA 関連変異の解析

上記と同様の目的でアフリカ地域における解析を開始することとし、ガーナ共和国の野口記念医学研究所 (Noguchi Memorial Institute for Medical Research) との共

同研究を開始した。ガーナ中央部に位置するコフォルディアの州立病院においてこれまでに 300 検体以上の HIV/AIDS 未治療者血液を採取し、現地での解析を行うとともに HLA タイピングおよびガーナ流行 HIV 株の遺伝子解析が進展中である。また感染者者情報と遺伝子解析情報を加味したデータベースの構築を進めている。

[石川晃一、Nicholas Nii-Trebi、松岡佐織、武田 哲、椎野禎一郎、高橋尚史、西澤雅子、William Ampofo (野口記念医学研究所)、成瀬妙子 (東京医科歯科大学)、木村彰方 (東京医科歯科大学)、俣野哲朗]

2. 国内の HIV 感染動向に関する研究

(1) 新規 HIV/AIDS 診断患者の動向調査

3 剤以上の抗 HIV-1 薬を併用する多剤併用療法(ART)が普及した今日、新規に HIV/AIDS と診断され、抗 HIV-1 薬剤に曝露歴が無いにも関わらず、薬剤耐性変異を獲得している症例が世界各国で報告されており、その頻度は先進諸国において 10-20% といわれている。我が国では新規 HIV/AIDS 感染者の報告数が 1400 例前後で推移しており、ART による予後の改善もあり治療を受けている累積 HIV/AIDS 症例は増加を続けている。このことから本邦においても新規 HIV/AIDS 診断症例への薬剤耐性 HIV の拡大が大きな関心をもたれている。我々は 2003 年から 2014 年にかけて全国の治療拠点病院、衛生研究所等の協力のもとに新規 HIV/AIDS 診断患者を対象に耐性検査を実施した。薬剤耐性検査ではプロテアーゼおよび逆転写酵素領域を、サブタイピングでは envC2/V3 領域を RT-PCR にて増幅し、その配列解析を行った。対象症例は 03 年:275 例、04 年:310 例、05 年:445 例、06 年:471 例、07 年:515、08 年:638 例、09 年:656 例、10 年:687、11 年:708、12 年:766、13 年:655、14 年:636 検体であった。いずれの年においても調査対象となった症例は 30-40 歳代の男性が中心 (>90%)、感染経路は同性間性的接触が 65-72% を占めていた。サブタイプは、いずれの年も 70% 以上が B であり、次いで CRF_01AE であった。また少数ながらサブタイプ A、C、AG、G も観察された。薬剤耐性症例の頻度は 03 年:5.8%、04 年:5.2%、05 年:8.1%、06 年:6.7%、07 年:9.6%、08 年:8.1%、09 年:8.6%、10 年:11.9%、11 年:9.4%、12 年:7.9%、13 年:8.9%、14 年:8.5% であった。クラス別に見るとヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤耐性の頻度は 03 年:4.0%、04 年:3.9%、05 年:4.8%、06 年:5.0%、07 年:5.9%、08 年:3.5%、09 年:3.6%、10 年:5.8%、11 年:5.6%、12 年:4.3%、13 年:5.2%、14 年:4.9% であった。非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤では 03

年：0.4%、04年：0.7%、05年：0.5%、06年：0.7%、07年：1.0%、08年：1.4%、09年：0.8%、10年：2.7%、11年：1.1%、12年：1.3%、13年：1.2%、14年：1.4%であった。同プロテアーゼ阻害剤では03年：1.5%、04年：0.7%、05年：2.9%、06年：1.5%、07年：3.3%、08年：3.7%、09年：4.5%、10年：4.6%、11年：3.0%、12年：3.2%、13年：2.6%、14年：2.6%であった。インテグラーゼ阻害剤耐性変異に関しては2013年にT66Iが1例検出されたが、主要な耐性変異の伝播は認められていない。ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤耐性変異のT215X、非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤耐性変異のK103N、プロテアーゼ阻害剤耐性変異のM46I/Lは毎年必ず検出されており、流行株として定着しているものと推測される。

[杉浦 亙、西澤雅子、服部純子(名古屋医療センター)、松田昌和(名古屋医療センター)、岩谷靖雅(名古屋医療センター)]

(2) 国内 HIV 感染者数の推定法に関する研究

日本国内における HIV 感染者数の推定法を確立することを最終目的とし、HIV 感染率を考慮し比較的 HIV 感染率の低い先進国を中心とした諸外国の HIV 感染者数推計のための手法調査を継続している。

[松岡佐織、俣野哲朗]

3. 検査・研究技術の開発・確立に関する研究

(1) 磁気粒子による感染者血漿からのウイルス分離

HIV の検査室レベルにおける感染診断は血清学的検査や遺伝子増幅検査によって行われる。近年、その性能は格段に進歩しているが、そのウイルスの全ゲノム構造解析やフェノタイプを調べる手段として、ウイルス分離は依然として重要である。一般的な HIV 分離法は、PHA や抗 CD3 抗体で刺激し IL2 存在下で培養した HIV 陰性末梢血単核細胞 (PBMC) をあらかじめ準備し、感染者 PBMC と共培養する方法である。しかしながら、分離の効率は PBMC のロットの影響を受けやすく、また採血後時間が経過した感染者 PBMC では分離効率が著しく低下する。凍結保存血漿を遠心濃縮したウイルスをこの方法で分離し増やすことも困難なことが多い。そこで我々は、磁気粒子を用いた感染者血漿からの高感度ウイルス分離法を樹立した。MAGIC5 細胞を用いることで、X4 ウイルス/R5 ウイルスに関係なく分離でき、また PBMC を使った場合と異なり明瞭な CPE が見られるため、ウイルス分離を容易に観察することができる。長期凍結保存された感染者血漿からのウイルス分離も応用可能である。

本年度は、国内 HIV-1 陽性血漿からウイルス分離を試みた。血漿を遠心後、沈渣を含まない上清 1mL に磁気粒子を加え、ローテーターで室温 15 分間混合した後に、磁気スタンドで磁気粒子を分離、無血清培地で攪拌して MAGIC5 細胞に加え、磁気プレート上で吸着後に培養した。継代を繰り返しながら 2 週間培養を続けたところ、-30°Cでの長期保存というウイルス分離にあまり適さない条件で保存されていた検体にも関わらず、34 検体中 2 検体でシンシチウムの形成が観察されウイルス分離を確認できた。

[草川 茂、巽 正志]

(2) 様々な HIV-1 サブタイプ/CRF/Group を検出可能な in-house real-time RT-PCR 法の樹立

我々の研究室では、国際標準品作製の国際協力への対応や、HIV 検査診断薬の性能評価用検体の調整、ウイルス定量などの目的で、SYBR Green 法を用いた in-house real-time RT-PCR 法を行ってきた。従来法を改良し樹立した方法で、6 種類のサブタイプ、4 種類の CRF およびグループ O を含む 27 株の分離ウイルスの定量を行った。得られた定量値は、HIV-1 RNA 定量試薬「コバス TaqMan HIV-1 オート Ver.2.0」を用いて定量した結果と 0.5log の範囲内にあり、本法がウイルス定量法として有用であり、サブタイプ/CRF/グループを問わず同じ検出感度を有していることが確認できた。本法を用いて定量し、一定量を HIV 陰性血漿にスパイクした検体は、抗 HIV 抗体と HIV-1 p24 抗原を同時に検出する、いわゆる第 4 世代 HIV スクリーニング試薬の、感染急性期の検出に重要な HIV-1 p24 抗原の検出感度の評価や、新しい確認検査法として注目されている核酸増幅検出系試薬の臨床的特異性の評価用検体の作製に応用が期待される。

[草川 茂、巽 正志]

IV. その他のレトロウイルスに関する研究

1. HTLV-1 に関する研究

(1) HTLV-1 感染細胞を標的とする細胞性免疫反応に関する研究

HTLV-1 感染症は ATL (成人 T 細胞白血病) 等の重篤な疾病発症に結びつくことから、その感染・発症の防御法の開発は重要課題である。本研究では、HTLV-1 感染細胞を標的とする有効な細胞性免疫反応の誘導法開発を目的とし、標的抗原候補として最重要と考えられる Tax 抗原特異的細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) 反応の解析を進めることとした。Tax トランスジェニックマウス由来 ATL 細胞を移植したマウスにおける Tax 特異的 CTL 反応

誘導を示すとともに、プロウイルスの検出による移植細胞の検出系を構築し、解析を推進している。

[中村 碧、石井 洋、松岡佐織、鈴木忠樹(感染病理部)、長谷川秀樹(感染病理部)、俣野哲朗]

(2) HTLV-1 プロウイルスゲノムを特異的に認識する ZFN のヒトゲノム毒性評価にかかる実験系の構築

現在日本の HTLV-1 感染者数は増加していることが危惧されている。我々は HTLV-1 プロウイルスゲノム特異的 DNA 破壊酵素 ZFN が HTLV-1 感染症根治を達成できる可能性を秘めた分子であることを実証してきた。実用化を目指した基盤研究として、治療分子に内在する非特異的な細胞毒性の評価が求められる。昨年度、Tet On 系を利用し、ZFN1 と ZFN2 を同調的に ATL 由来細胞株で発現させる系を構築し細胞毒性の評価を実施したが、発現量や発現比率の問題で十分な評価が困難であった。特に、ZFN を導入した細胞を樹立する際に、若干の発現リークがあった場合、ZFN に潜在する細胞毒性に対して抵抗性を持つ細胞が選択された可能性も考えられた。これを解決するため、ZFN1 と ZFN2 を IRES 配列で共発現させる組換えレンチウイルスを構築して細胞毒性評価の検討を行うこととした。ベクターの構築が終了したため、今後は組換えレンチウイルスを作製し、ATL 細胞に導入して ZFN の細胞毒性を評価する。

[武田 哲、田中 淳(大阪大学)、駒野 淳(大阪府立公衆衛生研究所)]

2. フォーミーウイルスに関する研究

(1) カニクイザルフォーミーウイルスに関する研究

フォーミーウイルス (foamy virus; FV) はレトロウイルス科スプーマウイルス亜科に属し、サル、ウシ、ウマ、ネコ等に自然感染していることが知られている。我々は実験用カニクイザルの FV 感染状況について、サル検体(腎、唾液、全血、PBMC)を用いて PCR および遺伝子解析法により調査を行い、ウイルス分離も試みてきた。今年度は更に頭数を増やし、累積頭数 80 頭を検査した。そのうち SFV 陽性となったのは 38 頭(48%)であった。検体や分離ウイルスの遺伝子解析結果から、同一個体に複数のウイルスの存在が示唆される例が数例見つかった。これが個体内でのウイルス変化の結果なのか、あるいは複数ウイルスの重感染の結果なのかの解明は今後の課題である。

[阪井弘治、網 康至(動物管理室)、須崎百合子(動物管理室)、俣野哲朗]

品質管理に関する業務

I. 行政検査

1. 体外診断薬承認前試験

本年度は、感染研への正式な審査依頼は無かったが、HIV スクリーニング検査試薬 2 件、HTLV スクリーニング検査試薬 2 件、HTLV 確認検査試薬 1 件について、医薬品医療機器総合機構 (PMDA) 担当者と打ち合わせを行い、PMDA における審査が進行中である。

[草川 茂]

II. 標準血清パネル及び遺伝子多型標準品作成等事業

1. HIV検体パネルの譲渡

体外診断薬の製造販売承認申請に必要な、国内臨床検体を用いた同じ検出原理の既承認品との相関性試験に供するための検体パネルを譲渡する事業を行っている。HIV陽性検体パネルは様々な検出特性と国内の主な流行株であるサブタイプBおよびCRF01_AEを含む80検体のHIV-1陽性パネルと20検体のHIV陰性パネルから成る。本年度は2社からHIV陽性および陰性パネル譲渡の申請があり、いずれも申請を受理し譲渡を行った。昨年度の事業開始から譲渡された現行パネル数は4セットとなった。

[吉村和久、草川 茂]

2. 日赤献血由来検体を用いた新たなパネル検体の整備

HIV流行株は多様であり、国や地域、年代によってHIV流行株は異なっているため、体外診断薬の国内HIV陽性検体への適応を調べるために、現在の流行状況を反映したパネルへの定期的なアップデートが必要である。今年度は、日本赤十字社より新たにHIV-1陽性34検体およびHIV陰性15検体の譲渡を受けた。次年度以降、値付けおよび特性付けの作業を進める予定である。また、体外診断用医薬品承認基準によれば、検体数は100検体以上、陽性若しくは陰性となるもののうち少ない方の検体数が50検体以上とするとされており、現在のHIV陰性パネル(20検体)だけでは申請に必要な基準を満たすことができない。そこで、これまでに日本赤十字社から譲渡を受けたHIV陰性検体のパネル整備作業及び値付けを行い、合計80検体からなる新たなロットのHIV陰性検体パネルを登録、譲渡を開始した。申請を希望するメーカーの申請書作成ならびに審査の迅速化に有用なツールとなる。

[吉村和久、草川 茂、加藤孝宣(ウイルス第二部)、浜口 功(血液・安全性研究部)、大隈 和(血液・安全性研究部)、大西和夫(免疫部)、森 嘉生(ウイルス第三部)、日野 学(日本赤十字社血液事業本部)]

国際協力関係業務

I. 平成 26 年度 JICA とエイズ研究センター共催による JICA 研修員受入事業「サーベイランスを含む HIV 対策のための検査技術・実験室マネジメント」(平成 26 年 6 月 9 日-7 月 14 日)

現在世界的に拡大を続けている HIV-1 感染、AIDS 発症の予防のためには、HIV-1 の蔓延状況の正確な把握が欠かせない。このためには確固とした診断技術に基づいた HIV-1 感染診断が必須である。近年 HIV-1 の感染診断は従来の感染の有無のみを判断する血清学的診断に加えて、感染ウイルスの質、量を知ることができる PCR 法に基づいた診断法が重視されるようになってきている。しかし、現在感染の中心となっている第三世界では必ずしもこれらの診断技術が確立されていないのが現状である。これらの状況に対応するため当センターでは JICA との共催により第三世界の研修員を対象に HIV-1 の感染診断のための技術講習コースを毎年 1 回開催している。過去 5 フェーズ(各フェーズ 5 年間、前々回のフェーズから 3 年間に渡って血清診断を中心とした研修を行ってきた。前回のフェーズ(H23-H25 年度)では、途上国のナショナルレファレンスラボ(またはそれに準ずる組織)に HIV 感染・エイズの診断とモニタリングに必要な理論的背景知識およびそれらの検査技術の普及を図るため、「HIV 感染診断とモニタリングのための実験室検査技術」というコース名で研修を 3 年間実施した。本年度は、新たに 3 カ年で策定された「サーベイランスを含む HIV 対策のための検査技術・実験室マネジメント」の第 1 回を実施した。ボツワナ、ケニア、ミャンマー、スリランカ、タイの 5 カ国 8 名の研修員を対象に、5 週間にわたって村山庁舎を中心として技術研修を行った。研修内容は検査診断、実験マネジメント、さらにサーベイランスに必要な関連分野の講義、診断技術実習、施設訪問等を組み合わせたもので、実習は 3-4 名ずつ 3 班に分けて行った。研修員に好評を博してきた「PCR ワークショップ」は 3 日間実施した。これまでと同様に、研修員が主体となり希望する PCR 関係の実験や塩基配列解析を行い、学習した実験技術・解析方法の確実な習得を目指した。研修員の積極的な参加を得て高い成果をあげることが出来た。なお、見学は昨年度と同様の 4 施設(日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター、SRL・富士レビオ、大阪府公衆衛生研究所)で実施した。

[村上 努、吉村和久、山本浩之、原田恵嘉、草川 茂、西澤雅子、武部 豊、阪井弘治、武田 哲、藤野真之、森 一泰、石川晃一、松岡佐織、石井 洋、野村拓志、高橋尚史、俣野哲朗、棚林 清(バイオセーフティ管理室)、

伊木繁雄(バイオセーフティ管理室)、椎野禎一郎(感染症疫学センター)、大石和徳(感染症疫学センター)、Jintana Ngamvithayapong-Yanai(結核予防会結核研究所)、渡辺恒二(国立国際医療研究センター)、小柳義夫(京都大学)、若杉なおみ(筑波大学)、立川 愛(東京大学)、竹村太地郎(長崎大学)、半田祐二郎(北海道医療大学)、大和田尚(日本赤十字社中央血液研究所)、小林洋輔(国際協力機構)]

II. その他

1. 第 2 回横浜国際保健サマワーショップ「感染症研究プロジェクト」 静岡県御殿場市国立駿河療養所(平成 26 年 8 月 22-24 日)[石川晃一]

2. 公開セミナー ガーナを知ろう!「ガーナ大学・野口記念医学研究所の活動」 京都大学 100 周年時計台記念館(平成 26 年 11 月 30 日)[石川晃一]

3. 平成 26 年度 JICA・国立病院機構熊本医療センター共催「HIV/エイズ予防及び対策～MDG6 達成に向けて」研修コース 講師(平成 27 年 3 月 4 日)[山本浩之、石川晃一]

研修業務

1. 医師卒後臨床研修プログラム 講師(平成 26 年 10 月 22 日)[山本浩之]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) [Takebe Y](#), Naito Y, Raghwan J, Fearnhill E, Sano T, [Kusagawa S](#), Mbisa JL, Zhang H, [Matano T](#), Brown AJ, Pybus OG, Dunn D, Kondo M; UK Collaborative Group on HIV Drug Resistance: Inter-continental dispersal of HIV-1 subtype B associated with transmission among men who have sex with men in Japan. *J Virol* 88: 9864-9876, 2014.
- 2) [Nomura T](#), [Yamamoto H](#), [Takahashi N](#), Naruse TK, Kimura A, [Matano T](#): Identification of SIV Nef CD8⁺ T cell epitopes restricted by a MHC class I haplotype associated with lower viral loads in a macaque AIDS model. *Biochem Biophys Res Commun* 450: 942-947, 2014.
- 3) Terahara K, [Ishii H](#), [Nomura T](#), [Takahashi N](#), [Takeda A](#),

- Shiino T, Tsunetsugu-Yokota Y, Matano T: Vaccine-induced CD107a⁺ CD4⁺ T cells are resistant to depletion following AIDS virus infection. *J Virol* 88: 14232-14240, 2014.
- 4) Yoshimura K, Harada S, Boonchawalit S, Kawanami Y, Matsushita S: Impact of maraviroc-resistant and low-CCR5-adapted mutations induced by in vitro passage on sensitivity to anti-envelope neutralizing antibodies. *J Gen Virol* 95: 1816-1826, 2014.
 - 5) Jacob B, Yamamoto N, Brandful JM, Ampofo W, Bonney K, Bonney E, Odoom K, Aidoo S, Alale M, Ntim N, Amoah Y, Ofori S, Ndzinu J, Aziati J, Addo N, Nyarko A, Ido E, Ishikawa K, Yamaoka S: Establishment of in-house quantitative real-time RT-PCR assay for HIV-1 viral load measurement: application to evaluate efficacy of ART in Ghanaian patients in an urban setting. *J AIDS Clin Res* 5: 305, 2014.
 - 6) Wei H, Hsi JH, Feng Y, Xing H, He X, Liao L, Duan S, Ning C, Wang N, Takebe Y, Shao Y: Identification of a novel HIV-1 circulating recombinant form (CRF62_BC) in western Yunnan of China. *AIDS Res Hum Retroviruses* 30(4): 380-383, 2014.
 - 7) Wei H, Liu Y, Feng Y, Hsi JH, Xing H, He X, Liao L, Takebe Y, Li J, Shao Y: Genome sequence of a novel HIV-1 circulating recombinant form (CRF57_BC) identified from Yunnan, China. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 30(4): 384-388, 2014.
 - 8) Feng Y, Wei H, Hsi JH, Xing H, He X, Liao L, Ma Y, Ning C, Wang N, Takebe Y, Shao Y: Identification of a novel HIV-1 circulating recombinant form (CRF65_cpx) comprised of CRF01_AE and subtypes B and C in western Yunnan, China. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 30(6): 598-602, 2014.
 - 9) Chow WZ, Takebe Y, Syafina NE, Prakasa MS, Chan KG, Al-Darraj HA, Koh C, Kamarulzaman A, Tee KK: A newly emerging HIV-1 recombinant lineage (CRF58_01B) disseminating among people who inject drugs in Malaysia. *PLoS One* 9(1): e85250, 2014.
 - 10) Chow WZ, Nizam S, Ong LY, Ng KT, Chan KG, Takebe Y, Koh C, Kamarulzaman A, Tee KK: Genome sequence of a complex HIV-1 unique recombinant form involving CRF01_AE, subtype B, and subtype B' identified in Malaysia. *Genome Announc* 2(2), 2014.
 - 11) Zhang W, Han X, An M, Zhao B, Hu Q, Chu Z, Xu J, Cai W, Chen X, Fu J, Wang Z, Wu J, Lu L, Zhuang M, Wu H, Yan H, Liao C, Takebe Y, Shang H: Identification and characterization of a novel HIV-1 circulating recombinant form (CRF59_01B) identified among men-who-have-sex-with-men in China. *PLoS One* 9(6): e99693, 2014.
 - 12) Cheong HT, Ng KT, Ong LY, Chook JB, Chan KG, Takebe Y, Kamarulzaman A, Tee KK: Cross-border sexual transmission of the newly emerging HIV-1 clade CRF51_01B. *PLoS One* 9(10): e111236, 2014.
 - 13) Li X, Zang X, Ning C, Feng Y, Xie C, He X, Takebe Y, Sun L, Guo Q, Xing H, Kalish ML, Shao Y: Molecular epidemiology of HIV-1 in Jilin province, northeastern China: emergence of a new CRF07_BC transmission cluster and intersubtype recombinants. *PLoS One* 9(10): e110738, 2014.
 - 14) Imahashi M, Izumi T, Watanabe D, Imamura J, Matsuoka K, Ode H, Masaoka T, Sato K, Kaneko N, Ichikawa S, Koyanagi Y, Takaori-Kondo A, Utsumi M, Yokomaku Y, Shirasaka T, Sugiura W, Iwatani Y, Naoe T: Lack of association between intact/deletion polymorphisms of the APOBEC3B gene and HIV-1 risk. *PLoS One* 9(3): e92861, 2014.
 - 15) Kudoh A, Takahama S, Sawasaki T, Ode H, Yokoyama M, Okayama A, Ishikawa A, Miyakawa K, Matsunaga S, Kimura H, Sugiura W, Sato H, Hirano H, Ohno S, Yamamoto N, Ryo A: The phosphorylation of HIV-1 Gag by atypical protein kinase C facilitates viral infectivity by promoting Vpr incorporation into virions. *Retrovirology* 11: 9, 2014.
 - 16) Shiino T, Hattori J, Yokomaku Y, Iwatani Y, Sugiura W: Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network: Phylodynamic analysis reveals CRF01_AE dissemination between Japan and neighboring Asian countries and the role of intravenous drug use in transmission. *PLoS One* 9(7): e102633, 2014.
 - 17) Gu L, Kawana-Tachikawa A, Shiino T, Nakamura H, Koga M, Kikuchi T, Adachi E, Koibuchi T, Ishida T, Gao GF, Matsushita M, Sugiura W, Iwamoto A, Hosoya N: Development and customization of a color-coded microbeads-based assay for drug resistance in HIV-1 reverse transcriptase. *PLoS One* 9(10): e109823, 2014.
 - 18) Kusagawa S, Yokota Y, Negishi M, Kondo M, Matano T, Kato S, Takebe Y: Novel HIV-1 recombinant identified in a foreign heterosexual resident in Japan: relatedness to recently reported CRF69_01B, detected primarily among

- Japanese men who have sex with men. *Genome Announc* 3: e00196-15, 2015.
- 19) Kirby KA, Ong YT, Hachiya A, Laughlin TG, Chiang LA, Pan Y, Moran JL, Marchand B, Singh K, Gallazzi F, Quinn TP, Yoshimura K, Murakami T, Matsushita S, Sarafianos SG: Structural basis of clade-specific HIV-1 neutralization by humanized anti-V3 monoclonal antibody KD-247. *FASEB J* 29(1): 70-80, 2015.
- 20) Valdez KPR, Kuwata T, Maruta Y, Tanaka K, Alam M, Yoshimura K, Matsushita S: Complementary and synergistic activities of anti-V3, CD4bs and CD4i antibodies derived from a single individual can cover a wide range of HIV-1 strains. *Virology* 475: 187-203, 2015.
- 21) Matsushita S, Yoshimura K, Valdez KPR, Pisupati J, Murakami T, the KD-1002 Study Group: Passive transfer of neutralizing mAb KD-247 reduces plasma viral load in patients chronically infected with HIV-1. *AIDS* 29(4): 453-462, 2015.
- 22) Hashimoto M, Nasser H, Bhuyan F, Kuse N, Satou Y, Harada S, Yoshimura K, Sakuragi J, Monde K, Maeda Y, Welbourn S, Strebel K, Abd El-Wahab EW, Miyazaki M, Hattori S, Chutiwitoonchai N, Hiyoshi M, Oka S, Takiguchi M, Suzu S: Fibrocytes differ from macrophages but can be infected with HIV-1. *J Immunol* 195(9):4341-4350, 2015.
- 23) Takeda S, Hisano M, Komano J, Yamamoto H, Sato H, Yamaguchi K: Influenza vaccination during pregnancy and its usefulness to mothers and their young infants. *J Infect Chemother* 21(4): 238-246, 2015.
- 24) Chook JB, Ong LY, Takebe Y, Chan KG, Choo M, Kamarulzaman A, Tee KK: Molecular detection of HIV-1 subtype B, CRF01_AE, CRF33_01B, and newly emerging recombinant lineages in Malaysia. *Am J Trop Med Hyg* 92(3): 507-512, 2015.
- 25) Yoshida S, Hattori J, Matsuda M, Okada K, Kazuyama Y, Hashimoto O, Ibe S, Fujisawa S, Chiba H, Tatsumi M, Kato S, Sugiura W: Japanese external quality assessment program to standardize HIV-1 drug-resistance testing (JEQS2010 program) using in vitro transcribed RNA as reference material. *AIDS Res Hum Retroviruses* 31(3): 318-325, 2015.
- 26) Watanabe T, Hamada-Tsutsumi S, Yokomaku Y, Imamura J, Sugiura W, Tanaka Y: Postexposure prophylactic effect of hepatitis B virus (HBV)-active antiretroviral therapy against HBV infection. *Antimicrob Agents Chemothe* 59(2): 1292-1298, 2015.
- 27) Boonchawalit S, Harada S, Shirai N, Gatanaga H, Oka S, Matsushita S, Yoshimura K: Impact of maraviroc-resistant mutation M434I in the C4 region of HIV-1 gp120 on sensitivity to antibody-mediated neutralization. *Jpn J Infect Dis*, in press.
- 28) Sugimoto C, Hasegawa A, Saito Y, Fukuyo Y, Chiu KB, Cai Y, Breed MW, Mori K, Roy CJ, Lackner AA, Kim WK, Didier ES, Kuroda MJ: Differentiation kinetics of blood monocytes and dendritic cells in macaques: insights to understanding human myeloid cell development. *J Immunol*, in press.

2. 和文発表

- 1) 俣野哲朗: エイズワクチン開発の現状と今後の展望. ヒューマンサイエンス (ヒューマンサイエンス振興財団) 25(1): 28-31, 2014.
- 2) 五領舞衣, 俣野哲朗: グローバル感染症: エイズワクチン. 特集: 次世代感染症ワクチン. 最新医学 (最新医学社) 69(4): 804-809, 2014.
- 3) 石井 洋, 俣野哲朗: センダイウイルス. 遺伝子治療・診断の最先端技術と新しい医薬品・診断薬の開発, 技術情報協会, p236-p241, 2014.
- 4) 俣野哲朗: ウイルス感染に対するワクチン. 病原微生物学—基礎と臨床—(荒川宣親, 神谷 茂, 柳 雄介編) 東京化学同人, p225-p229, 2014.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Matano T: SIV control by Gag/Vif/Nef-specific CD8 T cells. HIV Elite Controllers Mini-Symposium, University of Miami Miller School of Medicine, Apr 11, 2014, Miami, USA.
- 2) Nakamura M, Takahara Y, Matsuoka S, Miura T, Koyanagi Y, Matano T: Therapeutic vaccine-induced Gag-specific CD8⁺ T cells under anti-retroviral therapy contribute to viral control in a macaque AIDS model. 20th International AIDS Conference, Jul 20-25, 2014, Melbourne, Australia.
- 3) Boonchawalit S, Harada S, Matsushita S, Yoshimura K: Impact of Maraviroc (MVC)-resistant mutations in C1 and C4 regions of gp120 on sensitivity to antibody-mediated neutralization. 20th International AIDS Conference, Jul 20-25, 2014, Melbourne,

- Australia.
- 4) Matano T: Depletion of vaccine-induced CD107a⁻ CD4⁺ T cells following AIDS virus infection. 13th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep 23-26, 2014, Nara, Japan.
 - 5) Yamamoto H, Takahashi N, Poplimont H, Nomura T, Matano T: Passive neutralizing antibody-induced elite SIV control lacking early signatures of immunodominant CTL selective pressure. 13th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep 23-26, 2014, Nara, Japan.
 - 6) Matano T: Depletion of vaccine-induced CD107a⁻ CD4⁺ T cells following SIV infection. 15th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 1-3, 2014, Kumamoto, Japan.
 - 7) Nomura T, Yamamoto H, Matano T: Broadening of CD8⁺ T-cell targets precedes accumulation of proviral escape mutations in SIV controllers. 15th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 1-3, 2014, Kumamoto, Japan.
 - 8) Boonchawalit S, Harada S, Matsushita S, Yoshimura K: Impact of maraviroc (MVC)-resistant mutations in the C1 and C4 regions of gp120 on sensitivity to antibody-mediated neutralization. 15th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 1-3, 2014, Kumamoto, Japan.
 - 9) Harada S, Yokoyama M, Boonchawalit S, Sato H, Matsushita S, Yoshimura K: Genetic and structure-function analyses of human immunodeficiency virus type 1 escape from CD4 mimic small compounds (CD4MCs). 15th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 1-3, 2014, Kumamoto, Japan.
 - 10) Matano T, Terahara K, Ishii H, Nomura T: Vaccine-induced CD107a⁺ CD4⁺ T cells are resistant to killing following immunodeficiency virus infection. HIV Research for Prevention 2014 (HIV R4P 2014), Oct 28-31, 2014, Cape Town, South Africa.
 - 11) Karita E, Anzala O, Gazzard B, Bergin P, Nyombayire J, Omosa G, Jackson A, Ingabire R, Ouattara G, Park H, Gumbe A, Chinyenze K, Welsh S, Verlinde C, Clark L, Chetty P, Booley M, Bizimana J, Farah B, Hayes P, Zachariah D, Syvertsen K, Lim MF, Dally L, Barin B, Inoue M, Hara H, Hironaka T, Shu T, Hasegawa M, Matano T, Sayeed E, Parks C, Ackland J, Fast PM, Gilmour J, Cox JH, Lombardo A, Laufer D: Clinical safety and immunogenicity of two HIV vaccines SeV-G (NP) and Ad35-GRIN in HIVuninfected, healthy adult volunteers. HIV Research for Prevention 2014 (HIV R4P 2014), Oct 28-31, 2014, Cape Town, South Africa.
 - 12) Harada S, Yokoyama M, Boonchawalit S, Sato H, Matsushita S, Yoshimura K: Resistance profile of CD4 mimic small compounds (CD4MCs) and the structure analysis by molecular dynamic (MD) simulation. HIV Research for Prevention 2014 (HIVR4P 2014), Oct 28-31, 2014, Cape Town, South Africa.
 - 13) Matano T: A Sendai virus vector vaccine against HIV infection. Symposium 2: Next Generation Vaccine Development, 62nd Annual meeting, Japanese Society for Virology, Nov 10-12, 2014, Yokohama, Japan.
 - 14) Yamamoto H, Matano T: *In vivo* dispositions of SIV_{mac239}-neutralizing antibody induction. 32nd annual symposium on non-human primate models for AIDS, Nov 11-14, 2014, Portland, USA.
 - 15) Nomura T, Yamamoto H, Matano T: Lasting SIV control by multiple Gag, Vif, and Nef epitope-specific CD8⁺ T cells. 32nd annual symposium on non-human primate models for AIDS, Nov 11-14, 2014, Portland, USA.
 - 16) Harada S, Irahara Y, Boonchawalit S, Goryo M, Tamamura H, Matano T, Matsushita S, Yoshimura K: Mutations at the bottom of the Phe43 cavity are responsible for cross-resistance to NBD analogues. 22nd Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI 2015), Feb 23-26, 2015, Seattle, USA.
2. 国内学会
 - 1) 中村 碧, 高原悠佑, 松岡佐織, 俣野哲朗: 抗 HIV 薬投与下の CD8 陽性 T 細胞反応誘導がウイルス複製に及ぼす影響の解析. 第 16 回白馬シンポジウム, 2014 年 6 月 13-14 日, 熊本.
 - 2) 原田恵嘉, 横山 勝, Samatchaya Boonchawalit, 佐藤裕徳, 松下修三, 吉村和久: 新規エントリー阻害剤の組み合わせによる抗ウイルス効果と耐性変異の解析. 第 16 回白馬シンポジウム, 2014 年 6 月 13-14 日, 熊本.
 - 3) 石井洋: 宿主個体内で誘導される多様な CTL 集団とウイルス複製制御. 第 17 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE (SRC2014), 2014 年 7 月 3-5 日, 熱海.
 - 4) 原田恵嘉: 新規エントリー阻害剤の組み合わせによる抗ウイルス効果と耐性変異の解析. 第 17 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE (SRC2014), 2014 年 7 月 3-5 日, 熱海.
 - 5) 俣野哲朗: HIV ワクチン. シンポジウム 1: 感染制

- 御と MHC, 第 23 回日本組織適合性学会大会, 2014 年 9 月 13-15 日, 長崎.
- 6) Takeda S, Kanbayashi D, Kurata T, Yoshida H, Komano J: Enhanced susceptibility of B lymphoma cells measles virus by EBV type III latency that up-regulated CD150/SLAM. 第 73 回日本癌学会学術総会, 2014 年 9 月 25-27 日, 横浜.
 - 7) 関紗由里, 野村拓志, 西澤雅子, 横山 勝, 佐藤裕徳, 團塚 愛, 三浦智行, 小柳義夫, 俣野哲朗: SIV の持続感染・伝播における変異蓄積に関する研究. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 2014 年 11 月 10-12 日, 横浜.
 - 8) 原田恵嘉, 横山 勝, Samatchaya Boonchawalit, 佐藤裕徳, 松下修三, 吉村和久: CD4 類似低分子化合物誘導体 (CD4MCs) の耐性プロファイルと分子動力学的機構解析. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 2014 年 11 月 10-12 日, 横浜.
 - 9) 引地優太, 横山 勝, 竹村太地郎, 藤野真之, 熊倉成, 山本直樹, 佐藤裕徳, 俣野哲朗, 村上 努: 新規 CXCR4 阻害剤 KRH-3955 耐性 HIV-1 の誘導とその解析. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 2014 年 11 月 10 日-12 日, 横浜.
 - 10) 中村 碧, 高原悠佑, 松岡佐織, 三浦智行, 小柳義夫, 成瀬妙子, 木村彰方, 俣野哲朗: 抗 HIV 薬投与下の治療ワクチン接種により誘導される CD8 陽性 T 細胞の SIV 複製抑制能の解析. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2014 年 12 月 3-5 日, 大阪.
 - 11) 俣野哲朗: 感染者における HIV コントロール. HIV 感染症の Cure は可能か?—基礎研究者の挑戦, 市民公開講座, 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2014 年 12 月 3-5 日, 大阪.
 - 12) 原田恵嘉: CD4 類似低分子化合物 (CD4MCs) と gp120. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2014 年 12 月 3-5 日, 大阪.
 - 13) 泉福英信, 有家 巧, 富永 燦, 丸岡 豊, 吉村和久: HIV 感染者唾液を用いた口腔疾患発症予測因子の検討. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2014 年 12 月 3-5 日, 大阪.
 - 14) 岡崎玲子, 蜂谷敦子, 服部純子, 瀧永博之, 渡邊 大, 長島真美, 貞升健志, 近藤真規子, 南 留美, 吉田繁, 森 治代, 内田和江, 椎野禎一郎, 加藤真吾, 千葉仁志, 伊藤俊広, 佐藤武幸, 上田敦久, 石ヶ坪良明, 古賀一郎, 太田康男, 山元泰之, 福武勝幸, 古賀道子, 岩本愛吉, 西澤雅子, 岡 慎一, 岩谷靖雅, 松田昌和, 重見 麗, 保坂真澄, 林田庸総, 横幕能行, 上田幹夫, 大家正義, 田邊嘉也, 白阪琢磨, 小島洋子, 藤井輝久, 高田 昇, 高田清式, 山本政弘, 松下修三, 藤田次郎, 健山正男, 杉浦 互: 新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV の動向, 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2014 年 12 月 3-5 日, 大阪.
 - 15) 西澤雅子, Johnson Jeffrey, Heneine Walid, 杉浦 互: 抗 HIV 治療患者から臨床経過観察中に検出される微小集族薬剤耐性変異の特性と臨床的意義の解析. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2014 年 12 月 3-5 日, 大阪.
 - 16) 武田 哲, 堀谷まどか, 山口晃史: 母乳を介した HIV 母子感染予防法の確立. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2014 年 12 月 3-5 日, 大阪.
 - 17) 引地優太, 武田英里, 藤野真之, Eric O. Freed, 中山英美, 塩田達雄, 俣野哲朗, 村上 努: HIV-1 マトリックス (MA) 変異体を用いた複製前期過程の解析. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2014 年 12 月 3 日-5 日, 大阪.
 - 18) 野村 渉, 水口貴章, 大橋南美, Mathieu Metifiot, 藤野真之, Yves Pommier, 駒野 淳, 村上 努, 玉村啓和: HIV-1 遺伝子産物由来のインテグラーゼ阻害活性を持ったステーブルペプチド. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2014 年 12 月 3 日-5 日, 大阪.
 - 19) 武部 豊, 内藤雄樹, 草川 茂, 加藤真吾, 俣野哲朗, 近藤真規子: 男性同性愛者 (MSM) 間の HIV-1 流行の国際的感染ネットワークの解明へ向けて: 我が国-中国-世界流行間のこれまで明らかにされてこなかった相互関係について. 基礎/社会合同ワークショップ, 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2014 年 12 月 3-5 日, 大阪.
 - 20) 近藤真規子, 佐野貴子, 椎野禎一郎, 井戸田一朗, 山中 晃, 岩室紳也, 吉村幸浩, 立川夏夫, 今井光信, 武部 豊, 加藤真吾: 日本で検出した HIV-1 組換え型流行株および孤立型組換えウイルスの解析. 基礎/社会合同ワークショップ, 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2014 年 12 月 3 日-5 日, 大阪.
 - 21) 俣野哲朗: HIV ワクチン開発: 臨床応用に向けて. バイオロジクスフォーラム第 12 回学術集会, 2014 年 12 月 12 日, 東京.